

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ปัญหาและที่มาของงานวิจัย

กรดอินทรีย์เป็นสารประกอบคาร์บอนที่มีหมู่ carboxyl เป็นหมู่ฟังก์ชัน มีสูตรทั่วไปคือ R-COOH หรือ Ar-COOH (Singh และคณะ, 2010) โดยเฉพาะกรดอินทรีย์ทุกชนิดในวัฏจักรเครบส์ (Kreb's cycle; tricarboxylic acid cycle) สามารถผลิตโดยจุลินทรีย์และที่สำคัญเป็นสารมูลค่าสูง มีความจำเป็นต่อมนุษย์ในชีวิตประจำวันอย่างมาก โดยใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่น รส นอกจากนี้ใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น การผลิตพลาสติก การผลิตสารเคลือบผิวต่างๆ เป็นต้น (Jeong และคณะ, 2011; Singh และคณะ, 2010) งานวิจัยนี้สนใจการผลิตกรดมาลิก เนื่องจากกรดมาลิกสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อช่วยลดความสามารถในการดูดความชื้น การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (browning reaction) และยืดอายุการเก็บรักษา นอกจากนี้กรดมาลิกยังประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมยา โดยใช้เป็นสารเคลือบตัวยาและนำไปสู่กลุ่มเป้าหมาย (Huang และคณะ, 2012) ส่วนอนุพันธ์ของกรดโพลีมาลิกมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำจะนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเคลือบหรือทำน้ำที่เป็น micro particles และ nano particles (Vert, 1998) นอกจากนี้กรดมาลิกยังได้รับความสนใจจากกระทรวงพลังงานของสหรัฐอเมริกาเนื่องจากเป็นสาร building-block ที่สามารถเปลี่ยนเป็นสารตั้งต้นในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้หลากหลายและผลิตได้จากวัสดุชีวภาพโดยเชื้อจุลินทรีย์ (Werpy และ Petersen, 2004) คาดว่าในอนาคตกรดมาลิกจะเป็นสารเคมีที่ได้รับความนิยมและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในวงการอุตสาหกรรมต่างๆ มากกว่า 200,000 ตัน/ปี (Sauer และคณะ, 2008) กรดมาลิกสามารถผลิตได้ 2 วิธี คือ วิธีทางเคมีและวิธีทางชีวภาพ ซึ่งวิธีทางเคมีผลิตโดยปฏิกิริยาไฮเดรชันของกรดมาลิกหรือฟูมาลิกรวมกับน้ำ 2 โมเลกุล ที่อุณหภูมิและความดันที่สูง ผลผลิตที่ได้เป็นสารประกอบดี-กรดมาลิกและแอล-กรดมาลิก (Goldberg และคณะ, 2006) ข้อดีคือได้ผลิตภัณฑ์จำนวนมาก และใช้เวลาสั้น แต่ทำให้เกิดของเสียที่ทำลายสิ่งแวดล้อมและมีราคาแพง ส่วนวิธีทางชีวภาพทำได้โดยเฉพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดอินทรีย์ ซึ่งน้ำตาลสามารถผลิตได้จากวัสดุชีวภาพ เนื่องจากเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร มีจำนวนมาก หาง่ายและมีราคาถูก มีข้อดีคือเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ราคาประหยัด และสามารถทำปฏิกิริยาได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่มีข้อเสียคือใช้ระยะเวลานานและได้ผลผลิตน้อย (Jeong และคณะ, 2011) ซึ่งปัญหาดังกล่าวแก้ไขได้โดยศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเพิ่มผลผลิตและลดระยะเวลา

ปัจจุบันมีการทำวิจัยเรื่องการผลิตกรดอินทรีย์จากน้ำตาลกลูโคสเป็นจำนวนมาก เช่น รายงานของ Khan และคณะ (2013) ได้รายงานว่ *Penicillium viticola* 152 มีการผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงสุดเท่ากับ 132 กรัม/ลิตร เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 140 กรัม/ลิตร และเติมแอลกอฮอล์บอเนต 40 กรัม/ลิตร และเม็แหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น corn steep liquor ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตร/ปริมาตร โดยบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ความเร็ว 180 รอบ/วินาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เมื่อนำ *P. viticola* 152 มาผลิตในถังหมักขนาด 10 ลิตร ด้วยสภาวะข้างต้น พบว่าสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ 168 กรัม/ลิตร มีค่าผลได้เท่ากับ 1.288 กรัม/กรัม น้ำตาลกลูโคส ค่ากำลังการผลิตเท่ากับ 1.75 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง และ Wang และคณะ (2013) รายงานว่า *Penicillium sclerotiorum* K 302 ผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงสุด 88.6 กรัม/ลิตร มีค่าผลได้เท่ากับ 0.81 กรัม/กรัม น้ำตาลกลูโคส ค่ากำลังการผลิตเท่ากับ 1.23 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 140 กรัม/ลิตร และเติมแอลกอฮอล์บอเนต 50 กรัม/ลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ความเร็ว 300 รอบ/วินาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง และเมื่อนำ *P. sclerotiorum* K302 มาผลิตในถังหมักขนาด 10 ลิตร ด้วยสภาวะตามข้างต้น พบว่าผลิตกรดมาลิกได้ 92 กรัม/ลิตร มีค่าผลได้เท่ากับ 0.88 กรัม/กรัม น้ำตาลกลูโคส ค่ากำลังการผลิตเท่ากับ 1.23 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง แต่ใช้เวลาสั้นกว่าคือ 72 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการผลิตมาลิกจากน้ำตาลไซโลสโดยแบคทีเรีย ซึ่งน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลส่วนใหญ่ร้อยละ 30 – 45 ที่ได้จากการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส (Lin และ Cheng, 2006) จากรายงานวิจัยข้างต้นพบว่าไม่มีจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการหมักน้ำตาลไซโลสเป็นกรดมาลิกได้ ทำให้ผลิตกรดมาลิกได้ปริมาณน้อย เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นกรดมาลิกได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการหมักน้ำตาลไซโลสให้เป็นกรดอินทรีย์

1.2 วัตถุประสงค์ (Objectives)

1. เพื่อคัดแยกจัดจำแนกและศึกษาคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดมาลิกจากการหมักน้ำตาลไซโลส
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นกรดมาลิก
3. เพื่อศึกษาการทำให้กรดมาลิกบริสุทธิ์

1.3 ขอบเขตในการดำเนินงานวิจัย (Research Outline)

1. คัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้น้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอนและสามารถผลิตกรดมาลิกจากน้ำตาลไซโลสได้
2. จำแนกจุลินทรีย์โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพร้อมกับวิธีการหาลำดับเบสของชิ้นส่วนยีน 16S rRNA (16S rRNA gene sequencing)
3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดมาลิก
4. ศึกษาขั้นตอนในการทำให้กรดมาลิกบริสุทธิ์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (Benefit Expected)

สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่หมักน้ำตาลไซโลสเป็นกรดมาลิกและทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมาลิกของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตกรดมาลิกด้วยวิธีทางชีวภาพต่อไปในอนาคต